

Teneur en Phosphatases de quelques substances d'origine animale et végétale

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 16 Décembre 1936

PAR

ADRIENNE PLAUZOLLES

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université

(MENTION PHARMACIE)

JURY : { MM. ASTRUC, Doyen, Professeur, *Président*.
CRISTOL, Professeur à la Faculté de
Médecine. } *Assesseurs*.
MOUSSERON, Professeur.

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(Pierre-Rouge)

1936

**Teneur en Phosphatases
de quelques substances
d'origine animale et végétale**

Teneur en Phosphatases de quelques substances d'origine animale et végétale

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le Décembre 1936

PAR

ADRIENNE PLAUZOLLES

Pour obtenir le Diplôme de Docteur de l'Université

(MENTION PHARMACIE)

JURY : { MM. ASTRUC, Doyen, Professeur, *Président*.
CRISTOL, Professeur à la Faculté de
Médecine. } *Assesseurs*.
MOUSSERON, Professeur.

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITE
(Pierre-Rouge)

—
1936

Faculté de Pharmacie de Montpellier

MM.

ADMINISTRATION

A. ASTRUC (O. ✱ I. P. ☼)	Doyen.
A. JUILLET (I. P. ☼)	Assesseur.
LEBLAYE (A. ☼)	Secrétaire.

MM.

PROFESSEURS

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)	Pharm. galénique et industrielle.
C. HOLLANDE (I. P. ☼)	Zoologie et microbiologie.
A. JUILLET (I. P. ☼)	Botanique et matière médicale.
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✱, G. O. ✱)	Pharmacie chimique.
E. CANALS (I. P. ☼)	Physique.
M. MOUSSERON	Chimie organique.
P. JAUMES, Chargé du Cours	Analyse et Toxicologie.
E. CANALS (I. P. ☼) Chargé du Cours	Chimie minérale.

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☼)

M.

PROFESSEUR HONORAIRE

F. JADIN (O. ✱, I. P. ☼), Doyen hon. de la Faculté de Pharm. de Strasbourg.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES ET AUXILIAIRES

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)	Hydrologie.
C. HOLLANDE (I. P. ☼)	Zoologie.
A. JUILLET (I. P. ☼)	Botanique.
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✱, G. O. ✱)	Fonctions en chimie organique.
M. MOUSSERON	Chimie biologique.
P. JAUMES	Toxicologie.
MOYE, Doyen hon. Fac. de Droit (✱, I. P. ☼)	Législation pharmaceutique.

AGRÉGÉ

M. P. CASTEL, (A. ☼) chargé d'Agrégation

MM.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

L. FARRÉ (I. P. ☼)	Chimie et Pharmacie.
DAUBIAN-DELISLE (✱, I. P. ☼)	Physique.
SUSPLUGAS	Histoire naturelle.

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.



A MON GRAND-PÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

En témoignage de ma profonde affection

A MES MAÎTRES

A MES PARENTS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555203_0051

INTRODUCTION

Les phosphatases sont des diastases du groupe des estérases, qui catalysent la saponification des esters de l'acide orthophosphorique. Réversibles, comme toutes les diastases, elles favorisent de même la formation de ces esters.

La première phosphatase a été découverte en 1911 par NEUBERG et KARZAG (1). Depuis, de très nombreuses recherches ont été faites sur les diastases, en Allemagne, en Angleterre et aux Etats-Unis aussi bien qu'en France.

On a mis en évidence des phosphatases dans les micro-organismes et dans les tissus et les organes animaux et végétaux. Très largement répandues chez les êtres vivants, elles sont l'agent mobilisateur de l'ion PO^4 et conditionnent ainsi tout le métabolisme phosphoré qui, lui-même, tient sous sa dépendance un grand nombre de métabolismes.

C'est ainsi qu'elles interviennent dans la synthèse des acides nucléiques et des lécithines, dans la dégradation énergétique des glucides et des lipides. Elles déterminent l'absorption et l'élimi-

(1) Rappelons qu'antérieurement avait été découverte à Montpellier une sulfatase hydrolysant les indoxyl sulfates. (E. DERRIEN, *Hydrolyse diastasique des composés indigènes animaux et végétaux*. Soc. chim. France, section de Montpellier, séance du 16 décembre 1910.)

Il est curieux de remarquer que les deux principales sinon les seules diastases libérant des acides minéraux, ont été signalées presque simultanément.

nation des composés phosphorés. Chez les Vertébrés enfin, elles jouent un rôle important dans l'ostéogénèse et dans l'ostéolyse.

Leur hyperactivité aussi bien que leur insuffisance peut entraîner des troubles importants dans les métabolismes qu'elles régissent. On a pu établir qu'une hyperphosphatasémie considérable entraîne l'hyperostéolyse. On a pu d'autre part attribuer à leur déficience au niveau du duodénum, l'absorption défec-
tueuse des composés phosphato-calciques.

Désirant apporter notre modeste contribution à l'étude de ces diastases, nous nous sommes tout d'abord attaché à déterminer la teneur en phosphatases de diverses substances d'origine animale ou végétale. Nous avons ensuite étudié les variations de l'activité diastasique dans diverses circonstances.

Nous serions trop heureux si nos recherches pouvaient un jour trouver, en thérapeutique, une application pratique.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DES PHOSPHATASES SPÉCIFICITÉ DES PHOSPHATASES

Y a-t-il autant de phosphatases que d'esters phosphoriques ou bien n'existe-t-il qu'une phosphatase capable de dédoubler tous les esters ? Diverses théories se trouvent en présence et il est actuellement difficile de répondre à cette question.

H. D. KAY [22] apporte des preuves qui tendent à démontrer qu'il n'existe qu'une seule diastase capable d'accélérer l'hydrolyse de toutes les combinaisons organiques phosphorées.

Ses conclusions reposent sur trois constatations :

1° Le pH optimum pour une phosphatase donnée est le même vis-à-vis de l'hexose diphosphate que vis-à-vis du glycérophosphate.

2° Dans les mêmes conditions expérimentales, l'extrait d'un tissu donné hydrolyse les différents esters-phosphates avec une intensité presque égale.

3° Lorsqu'un vecteur diastasique est mis en présence de deux substrats hydrolysables (glycérophosphate et hexose diphosphate), le degré d'hydrolyse ne dépasse pas celui que l'on observe avec un seul des composés.

L'ABBÉ M. et FABRYKANT M. [29] faisant une revue générale de cette question, décrivent séparément une multitude de phosphatases. Il résulterait de leur exposé qu'il existe autant de phosphatases que d'esters dédoublables. C'est ainsi qu'ils étudient successivement la glycérophosphatase ; l'hexose diphosphatase ; l'hexose monophosphatase ; la saccharomonophosphatase ; la nucléotidase ; la phytase, la lécithinase et la pyrophosphatase.

En réalité, il est logique de penser que s'il existe plusieurs phosphatases, elles se distinguent non par l'ester qu'elles sont capables de dédoubler, mais par les conditions physico-chimiques de leur action. Il est, en tous cas, à peu près certain actuellement que la classification des phosphatases suivant l'ester dédoublé ne correspond pas à tous les faits observés.

D'une part, H. D. KAY [22] a démontré l'identité de la glycérophosphatase avec l'hexose diphosphatase.

D'autre part, J. CAYLA [16] a réalisé une expérience qui peut être interprétée en faveur de l'identité de la glycérophosphatase et de la pyrophosphatase. Il a trouvé que leur activité varie dans le même sens d'une quantité rigoureusement égale, ce fait n'étant compréhensible qu'en supposant l'existence d'une seule diastase pour dédoubler les deux substrats.

On a donc essayé de classer ces diastases en se basant sur les modalités de leur action.

J. ROCHE [39] classe les phosphatases d'après le pH optimum d'action, en deux types :

1^{er} type : les enzymes des hématies de pH optimum variant de 5,8 à 6,8 ;

2^e type : les enzymes du sérum, des globules blancs, de l'intestin, du rein, de pH optimum égal à 9.

Il existerait donc une phosphatase acide et une phosphatase alcaline.

Les expériences de M. J. COURTOIS [14] ont indiqué que le pH optimum d'action des moisissures est plus bas que celui des phosphatases des végétaux supérieurs ou des phosphatases acides des tissus animaux.

On pourrait, d'après ces travaux, établir la classification suivante :

Phosphatases des moisissures	{ pH optimum voisin de 5.
Phosphatases des végétaux supérieurs et phosphatases acides des tissus animaux	{ pH optimum voisin de 6
Phosphatases alcalines des tissus animaux	{ pH optimum voisin de 9.

Mais de nombreuses expériences sont encore venues démontrer qu'on ne pouvait considérer une telle classification comme définitive.

Les travaux de J. ROCHE [40], de KING, de BODANSKY et BARKWIN ont montré qu'une même diastase possède un pH optimum différent suivant l'ester qu'elle dédouble et réciproquement, qu'en faisant varier le pH, on peut faire attaquer à une même diastase des esters sur lesquels elle n'a aucune action à un autre pH.

J. ROCHE [41] a même réussi, en lui faisant subir une absorption et une élution, à transformer la phosphatase acide des globules en phosphatase alcaline.

Toutes ces recherches nous amènent à penser qu'une classification rigoureuse des phosphatases est, pour le moment, impossible à établir.

Néanmoins, si l'on veut étudier l'action des phosphatases par rapport à un substrat donné et dans les conditions biologiques de leur action, on aura, grosso modo, à faire à un groupe de phosphatases acides (pH optimum = 5 à 6) et à un groupe de phosphatases alcalines (pH optimum = 9).

Certains milieux ne contiennent qu'une phosphatase du groupe alcalin, ou qu'une phosphatase du groupe acide ; d'autres milieux contiennent, mélangées, des phosphatases de ces deux groupes.

P. CRISTOL et J. CAYLA [17] ont préconisé une méthode de dosage qui permet de déterminer séparément la teneur en phosphatase acide et alcaline dans un mélange des deux diastases. C'est cette méthode que nous avons adoptée pour effectuer nos dosages.

CHAPITRE II

PRINCIPES DE LA DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE. MÉTHODES DE DOSAGE.

Les phosphatases n'ont jamais été isolées et l'on ignore leur nature. Ce n'est donc pas le poids de la phosphatase que pourra donner un dosage, mais seulement une mesure de l'effet de leur activité. Il paraît logique d'exprimer cette activité par le poids d'ester, qui est hydrolysé dans l'unité de temps.

Divers autres procédés ont été employés pour exprimer cette activité. KING et ARMSTRONG [26] soumettent à l'action de la diastase un phényl phosphate et déterminent le poids de phénol séparé par l'hydrolyse.

La plupart des auteurs préfèrent exprimer l'activité diastatique par le poids d'acide orthophosphorique détaché dans l'unité de temps. On aura ainsi une commune mesure quel que soit l'ester dédoublé. C'est par ce procédé que H. D. KAY [22], ROBERTS [36], J. ROCHE [39], BODANSKY [6-7], M. J. COURTOIS [14], J. CAYLA [8] expriment l'activité des phosphatases.

Étant donné que les méthodes de dosage des phosphatases sont actuellement d'un emploi peu courant et qu'il n'existe pas encore d'ouvrage de chimie analytique réunissant l'exposé de ces diverses méthodes, nous croyons faire œuvre utile en les reproduisant ici.

MÉTHODE DE KAY [22]

Principe :

Le plasma est mis en contact avec le β glycérophosphate de Na, dans des conditions définies pendant 48 heures. Au bout de ce temps, on dose le phosphore minéral libéré par l'action diastasique.

KAY [22] a adopté, dans sa méthode, pour la phosphatase plasmatique, le pH optimum égal à 7,6. De plus, il fait durer l'expérience quarante-huit heures, la phosphatase plasmatique étant une diastase à action lente.

Solutions nécessaires :

1° *Solution de β glycérophosphate de Na.* — 1 gr. 50 de β glycérophosphate de Na pur et cristallisé dissous dans un litre d'eau distillée. On ramène la solution au pH 7,6 avec quelques gouttes de ClH à 0,2 N en présence de rouge de phénol comme indicateur. On ajoute 0 cc. 5 de CHCl_3 et l'on bouche le flacon.

2° *Solution de ClNa à 1,8 %.*

3° *Solution d'acide trichloracétique à 25 %.*

4° *Solution aqueuse de rouge de phénol à 0,02 ‰.*

Technique :

On prélève 12 cc. environ de sang que l'on verse dans un tube à centrifuger contenant 2 gouttes d'oxalate de K à 20 %. On centrifuge pendant 5 minutes, à la vitesse de 3.000 tours. Pour séparer les globules blancs qui restent encore dans le plasma, on le filtre sur du coton et l'on conserve le plasma ainsi purifié dans des tubes bien bouchés.

Sur un porte-tubes, on dispose 5 tubes et l'on met dans chacun des tubes :

10 cc. de solution de β glycérophosphate de sodium ;

1 cc. de solution de chlorure de sodium ;

1 cc. de plasma,

et l'on mélange.

Dans le 5^e tube, on ajoute en plus : X gouttes de solution d'indicateur et l'on note le pH constaté. Le tube n° 4 sert de « tube témoin » pour la lecture au comparateur.

Le tube n° 5 est mis de côté et dans les 4 premiers tubes, on ajoute :

IV gouttes de chloroforme, puis les tubes 1 et 2 sont additionnés de 2 cc. de solution d'acide trichloracétique, agités, bien bouchés et mis à la glacière.

Les tubes 3 et 4 sont également bouchés, légèrement agités et placés au bain-marie à 38°, pendant 48 heures. On agite de temps en temps, puis on retire les tubes ; on laisse refroidir et on met dans 3 et 4, 2 cc. de solution d'acide trichloracétique. Une heure après, on filtre le contenu des 4 tubes, sur filtres sans cendre. Et l'on dose ensuite le phosphore minéral dans chaque tube.

Sur 10 cc. de chaque filtrat, KAY emploie la méthode de BRIGGS pour doser le phosphore minéral. La différence entre le chiffre de phosphore minéral trouvé dans les tubes 3 et 4 et celui des tubes 1 et 2 représente $\frac{10}{14}$ d'hydrolyse réalisée par la diastase contenue dans 1 cc. de plasma.

Toutefois ce chiffre ne correspond pas au pH 7,6, il faut donc le ramener à ce pH, en tenant compte du pH initial, constaté au début de l'expérience. Pour cela, on se sert de la correction fournie par le graphique de KAY : il l'a obtenu en déterminant l'activité phosphatasique du plasma dans plusieurs expériences avec des valeurs de pH variant de 7,3 à 8.

UNITÉ DE LA PHOSPHATASE PLASMATIQUE :

Selon la nouvelle définition de KAY (1930), 1 cc. de plasma renferme une unité de phosphatase, lorsque cette quantité de plasma libère 1 mgr. de phosphore minéral exprimé en P, d'un excès de β glycérophosphate de sodium, en quarante-huit heures,

l'hydrolyse étant réalisée sans addition de tampon, au pH 7,6 dont la détermination se fera à la température du laboratoire.

Critique :

La solution de β glycérophosphate de sodium est trop diluée, et le substrat est entièrement dédoublé par des diastases actives, ce qui fait que cette méthode ne peut s'appliquer qu'aux cas dont l'activité diastasique est à peu près connue.

De plus, la très longue durée de l'hydrolyse entraîne des variations du pH et des corrections qui compliquent la méthode.

MÉTHODE DE ROBERTS [36-37]

Principe :

Le principe est le même que dans la méthode de KAY, cependant ROBERTS opère sur le sang total qu'il laisse en contact avec la combinaison phosphorée organique pendant deux heures seulement. Le pH du mélange varie entre 8,8 et 9,2.

Solutions nécessaires :

1° Solution de β glycérophosphate de Na à 1 %, fraîchement préparée ;

2° Solution de NaOH N/10 ;

3° Solution d'acide trichloracétique à 20 %.

Technique :

a) On introduit 2 cc. de sang dans un tube contenant 4 cc. d'eau distillée, on ajoute 4 cc. d'acide trichloracétique. On filtre sur un filtre sans cendre. On a le filtrat A.

b) Dans un tube de 10 cc., on met : 2 cc. de sang + 2 cc. 3 d'eau distillée + 0 cc. 7 de NaOH N/10 + 1 cc. de solution de β glycérophosphate de Na. On met le tube au bain-marie à 38°-40°, pendant 2 heures, puis on ajoute 4 cc. d'acide trichloracétique et l'on filtre. On a le filtrat B.

Les filtrats A et B sont complétés chacun à 10 cc. et l'on y dose le phosphore minéral. La différence entre les deux représente le degré d'activité diastasique.

UNITÉ D'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE :

C'est la quantité d'enzyme qui libère 1 mgr. de P d'un excès de β glycérophosphate de Na en 2 heures, au pH 8,8 à 9,2, à la température de 38-40°.

Critique :

Cette méthode n'est pas générale et ne peut s'appliquer qu'au cas particulier envisagé par l'auteur. De plus, sa façon d'exprimer l'unité d'activité phosphatasique ne nous paraît guère logique.

MÉTHODE DE BODANSKY [6-7]

Solutions nécessaires :

1° Solutions et réactifs nécessaires pour le dosage du Phosphore inorganique du sérum :

a) Solution étalon de Phosphate concentrée :

PO_4H^2 K.....	110 milligrammes.
SO_4H^2 concentré	1 goutte.
H_2O	250 cc.

10 cc. de cette solution contiennent 1 milligr. de Phosphore.
Diluer pour le dosage de façon à obtenir une solution telle que 5 cc. contiennent 0,02 milligr. de phosphore.

Solution étalon de Phosphate diluée :

Solution concentrée ...	10 cc.
Toluène	1 goutte.
H_2O q. s. p.	250 cc., dans un ballon jaugé.

b) *Réactif molybdique* préparé au moment de l'emploi :

SO^4H^2 10 N conservé au frigidaire ... 1 volume.

Ajouter rapidement en agitant :

Molybdate de Na à 7,5 % (1) 1 volume.

Eau distillée 2 volumes.

c) *Solution de chlorure stanneux* concentrée :

$\text{Cl}^2 \text{ Sn}$ 15 gr.

ClH concentré q. s. p.... 25 cc., dans un ballon jaugé.

Laisser reposer au frigidaire. Cette solution doit être faite chaque mois. Diluer au moment de l'emploi.

Solution de chlorure stanneux, diluée à 0,3 %.

Solution concentrée de $\text{Cl}^2 \text{ Sn}$ 1 cc.

Eau distillée q. s. p. 200 cc.

Tenir au frigidaire pendant le dosage.

d) *Solutions d'acide trichloracétique* à 5 et 10 %.

2° Substrat tamponné :

Dissoudre 2 gr. 50 de β glycérophosphate de Na et 2 gr. 12 de diéthylbarbiturate monosodique dans un ballon jaugé de 500 cc. Conserver le substrat ainsi préparé à la glacière, dans des flacons bouchés à l'émeri de 100 à 250 cc., sous une couche d'éther de pétrole purifié (Pt. éb. 30-36°) d'une épaisseur d'environ 3 cm.

Préparation des filtrats pour l'analyse :

Mesurer 10 cc. de substrat tamponné (contenant environ

(1) Préparation :

Acide molybdique exempt de phosphate et NH^3 . 90 gr.

Solution de NaOH 5 N 250 cc.

H^2O distillée q. s. p. 2.000 cc.

dans un ballon jaugé.

La solution doit être fortement alcaline à la phénolphtaléine.

Laisser reposer. — Décanter avant l'usage.

5 milligr. de P) dans un tube à essai de 20×150 cm. (pouvant être bouché à l'émeri ou par un bouchon de caoutchouc de telle façon que l'évaporation soit rendue négligeable).

Placer ce tube dans un bain-marie à 37° pendant quelques minutes ; ajouter 1 cc. de sérum centrifugé ; mélanger par simple renversement et replacer le tube dans le bain-marie à 37° pendant exactement 1 heure.

Après 1 heure, retirer, refroidir immédiatement dans la glace fondante et ajouter 9 cc. d'acide trichloracétique à 10 %. Mélanger et filtrer après quelques minutes sur un filtre sans cendre. (DURIEUX III. D = 11 cm.) Chaque cc. du filtrat correspond à 0 cc. 05 de sérum.

On prélèvera d'autre part 1 cc. du même sérum (1 cc. 5 ou 2 cc., si l'on s'attend à trouver une teneur en phosphore inorganique inférieure à 30 mgr. ‰). On le désalbuminera avec 9 volumes d'acide trichloracétique à 5 %, de façon à obtenir un filtrat pour le dosage du phosphore inorganique du sérum.

Les deux filtrats doivent être conservés à la glacière jusqu'à l'analyse. Dans ces conditions, des analyses exécutées immédiatement et après plusieurs jours, donnent d'excellents résultats.

On peut opérer avec des quantités moins importantes de sérum ; les sérums riches en phosphatases peuvent être laissés 30 ou même 15 minutes seulement. (Il faudra dans ce cas, faire une correction de temps ; voir plus loin : calcul de cette correction).

Dosage du Phosphore inorganique dans les deux filtrats :

On doit faire des prélèvements renfermant de 0,012 à 0,036 mgr. de phosphore.

On prépare 2 ou 3 tubes étalon contenant chacun 0,02 mgr. de phosphore.

Soit : Solution étalon diluée — 5 cc.

On prépare de même des tubes où seront mis les filtrats à doser.

Soit : Filtrat à doser V cc.

H₂O distillée 5 cc. — V cc.

Puis on ajoute à chaque tube

Réactif molybdique. 4 cc.

Mélanger par tapotement, puis ajouter :

Solution diluée de chlorure stanneux : 1 cc.

Le contenu est aussitôt mélangé par simple renversement. Avant la lecture, les tubes témoins sont contrôlés les uns par rapport aux autres.

Calculs :

Soit D dilution du sérum dans le filtrat (10 dans la détermination des phosphates du sérum, 20 dans le dosage des phosphatases ;

V le volume du prélèvement en cc. ;

20 la hauteur de l'étalon et h' celle du liquide à doser.

Dans la *correction d'éclairement de la loi de Beer*, on aura :

$$\frac{20 \times 0,024}{h'} - 0,0040 = T \text{ mgr. de P dans le milieu où}$$

s'est formé le bleu.

Pour avoir le nombre de milligr. de P dans 100 cc. de sérum,

$$T \times \frac{D}{V} \times 100 = \text{mgr. de P \%}.$$

Correction de l'atténuation du bleu due à l'acide trichloracétique (dosage de P inorganique du sérum) :

$$T + \frac{T \times V}{100} \text{ soit ajouter 1 \% en plus par cc. du filtrat}$$

présent dans le milieu où se forme le bleu.

Correction de l'atténuation du bleu due à la présence simultanée de l'acide trichloracétique et du β glycérophosphate de Na (dosage de P inorganique après hydrolyse) :

L'atténuation est, dans les conditions de la méthode, de — 2 % par cc. de filtrat prélevé pour le dosage.

$$\text{Soit valeur de T corrigé} = T + \frac{T \times 2 \text{ V}}{100}$$

Soit : T_1 = teneur en P inorganique de 100 cc. de sérum avant l'hydrolyse ;

T_2 = teneur en P inorganique de 100 cc. de sérum après l'hydrolyse.

$T_2 - T_1$ = quantité de P mgr. libérés par les phosphatases de 100 cc. de sérum en 1 h., à 37°.

UNITÉ D'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE :

Les résultats sont exprimés en unités par 100 cc. de sérum.

Une unité d'activité phosphatasique correspond à 1 milligr. de phosphore libéré sous forme d'ion PO_4 à partir d'une solution de β glycérophosphate de Na, pendant la première heure, au pH 8,6, à 37°.

Correction suivant la durée de l'hydrolyse :

Durée de l'hydrolyse	Facteur de correction
10 minutes	$(T_2 - T_1)$ 4,70
15 —	$(T_2 - T_1)$ 3,30
20 —	$(T_2 - T_1)$ 2,57
30 —	$(T_2 - T_1)$ 1,82
60 —	$(T_2 - T_1)$
120 —	$(T_2 - T_1)$ 0,55
180 —	$(T_2 - T_1)$ 0,39
240 —	$(T_2 - T_1)$ 0,30
360 —	$(T_2 - T_1)$ 0,215

On peut grâce à ce tableau connaître, quelle que soit la durée de l'hydrolyse, le taux de la libération pendant la première heure de l'hydrolyse.

Critique :

La méthode de BODANSKY, très compliquée, manque de précision eu égard à la très courte durée de l'hydrolyse et le grand nombre de corrections que préconise l'auteur n'empêche pas que la méthode soit sujette à des erreurs importantes [35].

Nous avons adopté la méthode de J. CAYLA à cause de sa très grande commodité. De plus, elle est assez générale pour pouvoir s'appliquer aux divers cas que nous avons étudiés.

AJUSTEMENT DES pH DANS LES MILIEUX D'HYDROLYSE :

P. CRISTOL et J. CAYLA [17] écrivent, au sujet du dosage simultané de la phosphatase acide et alcaline :

« Il est établi qu'il existe 2 phosphatases : une phosphatase
« alcaline dont le pH optimum d'action est très voisin de 9,
« et une phosphatase acide qui a un pH optimum voisin de 5.

«

« On peut, en faisant varier le pH, déterminer séparément
« le nombre d'unités diastasiques acides et alcalines contenues
« dans le milieu étudié. Au pH 9, la phosphatase acide est
« entièrement dépourvue d'activité (1). En faisant une déter-
« mination à ce pH, on dose uniquement la phosphatase alcaline
« contenue dans un mélange des deux diastases.

(1) Nous avons vérifié sur des moûts de raisin qu'au pH9, la phosphatase acide est nulle.

Voir aussi J. COURTOIS, *IV^e Congrès chim. biol.*, Paris, 1933.

« Nous avons, d'autre part, constaté qu'en pH 5, la phosphatase alcaline ne possède aucun pouvoir diastasique.

« Il suffit de faire une détermination au pH 5 et une détermination au pH 9 pour doser séparément les deux phosphatases contenues dans une substance. »

Solutions nécessaires :

1^o *Solution de β glycérophosphate de sodium à 1 %, préparée extemporanément :* On dissout 1 gr. de β glycérophosphate de Na dans 100 cc. d'eau distillée. On verse dans une capsule en porcelaine que l'on recouvre d'un verre de montre et l'on porte à une très douce ébullition, maintenue 10 minutes exactement.

2^o *Solutions de ClH N et N/10*

3^o *Solutions de NaOH N et N/10 ;*

4^o *Solution d'indicateur, pour pH acide : rouge de méthyle, à 0,4 ‰ ;*

5^o *Solution d'indicateur, pour pH alcalin : bleu de bromothymol à 0,4 ‰.*

Technique :

a) Détermination du pH acide, égal à 5 :

On dispose sur un porte-tubes, une dizaine de tubes dans chacun desquels on met :

1 cc. de substance à analyser,

5 cc. de β glycérophosphate de Na à 1 %,

1 goutte de solution de rouge de méthyle à 0,4 ‰,

et l'on ajoute, dans chaque tube, avec une pipette au 1/20^e, des volumes croissants d'une solution de ClH N ou ClH N/10, de manière à obtenir une gamme colorée. On reconnaît le tube correspondant à pH 5, soit en comparant avec l'échelle de CLARK, soit en faisant une interpolation.

Exemple d'interpolation pour déterminer la quantité de ClH à ajouter pour obtenir le pH désiré.

	Vecteur diastatique	β glycérophosphate de Na à 1 %	Rouge de méthyle	Solution de ClH N	Couleur obtenue	
Tube 1	1 cc.	5 cc.	I goutte	0	jaune	>
— 2	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 05	jaune	>
— 3	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 10	jaune	
— 4	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 15	jaune orangé	
— 5	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 20	orangé	
— 6	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 25	rose orangé	
— 7	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 30	rose	
— 8	1 cc.	5 cc.	I goutte	0 cc. 35	rose	<

Le tube 3 est au pH 6.

Le tube 7 est au pH 4,4.

Entre les tubes 3 et 7, il y a 4 intervalles ; à chaque intervalle correspond une variation de pH égale à :

$$\frac{6 - 4,4}{4} = 0,4.$$

Or le tube 6 correspond à 4,8 et le tube 5 à 5,2. Il faudra donc, pour avoir le pH = 5 ajouter :

$$\frac{0,20 + 0,25}{2} = 0 \text{ cc. } 25 \text{ de ClH N,}$$

dans 6 cc. du mélange vecteur + substrat.

b) Détermination du pH alcalin, égal à 9 :

On agit de même, mais en présence de bleu de bromothymol à 0,4 ‰ et l'on ajoute de la soude N ou N/10 de façon à obtenir la coloration correspondant à un pH = 9.

DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE PAR LA MÉTHODE DE J. CAYLA [9].

Solutions nécessaires :

1^o Réactif sulfo-molybdique de DENIGÈS :

Molybdate d'ammonium à 12 %, }
SO⁴H² concentré } (quantités égales).

2^o Solution étalon de Phosphate mono-ammonique (PO⁴H² NH⁴)
à 1 gr. 62 par litre.

De cette solution, on prend 1 cc. que l'on amène à 100 cc.
pour avoir une solution à 10 mgr. de P²O⁴ 0/100.

3^o Solution de chlorure stanneux.

Soit la solution de KUTTNER et COHEN que l'on dilue au
1/200^e au moment de l'emploi;

Soit une solution, extemporanément préparée :

Étain en feuille	0 gr. 10
SO ⁴ Cu à 10 %	1 goutte
ClH pur	2 cc.

Ajouter 10 cc. d'eau distillée — filtrer.

4^o Solution de β glycérophosphate de Na à 1 %, ramenée au
pH voulu.

5^o Solution d'acide trichloracétique à 20 %.

Technique :

5 cc. de la solution de β glyc. P. Na, ramenée au pH voulu
sont introduits dans un tube à essai. On prélève avec une pipette
à complet écoulement 1 cc. du liquide à étudier ; on le verse
sur les 5 cc. de β glyc. P Na ; l'on rince la pipette avec celui-ci,
de manière à réaliser un mélange parfait entre le vecteur dias-
tasique et le substrat à dédoubler.

Puis avec la même pipette, on prélève 1 cc. du mélange que

l'on porte dans un verre à expérience, contenant 3 cc. d'eau distillée. On désalbumine, si nécessaire (1), par addition de 1 cc. d'acide trichloracétique au 1/5^e. On filtre sur filtre sans cendres, pour avoir le filtrat I.

On pourra conserver ce filtrat I à la glacière de manière à le doser en même temps que celui du filtrat de la 24^e heure (filtrat II).

Le tube à essai dans lequel se fait l'hydrolyse est maintenu au bain-marie à 37° pendant 24 heures.

Au bout de 24 h., on prélève 1 cc. du mélange hydrolysé à partir duquel on prépare, comme il vient d'être dit pour le premier prélèvement, un filtrat II.

Dosage des orthophosphates minéraux [10] :

Dans un tube à essai, on verse :

Filtrat	1 cc.
Eau distillée	4 cc. 2

Dans 9 tubes, on dispose la gamme étalon. On commence par introduire dans chacun des 9 tubes, 0 cc. 2 d'acide trichloracétique au 1/5^e (2).

Puis de la solution étalon à 10 mgr. de P²O⁴ par litre, on verse :

Dans le tube numéro	0,5	0 cc. 25
—	1	0 cc. 50
—	2	1 cc.
—	3	1 cc. 50
—	7	3 cc. 50
—	8	4 cc.

(1) On se contente de diluer et de filtrer si l'on a à faire à un liquide non albumineux.

(2) S'il a été fait une désalbumination.

On amène le volume de chaque tube à 5 cc. 2 (1) en ajoutant :

Dans le tube numéro	0,5	4 cc. 75
— — —	1	4 cc. 50

etc... d'eau distillée.

Puis on ajoute dans les tubes étalons et dans les tubes à doser :

Réactif sulfo molybdique de DENIGÈS	IV gouttes.
Solution de chlorure stanneux	II gouttes.

On compare après 5 minutes, au microcolorimètre, les tubes à doser avec le tube étalon le plus voisin.

Calcul de la quantité de PO^4H^3 contenue dans 1 litre des solutions analysées :

Soit N le numéro du tube étalon,

Soit h la hauteur de la colonne du liquide étalon,

Soit h' la hauteur de la colonne du liquide à doser, qui réalise l'égalité des plages

$$\frac{N \times h \times 34,5}{h'} = \text{milligrammes de } PO^4H^3 \text{ par litre.}$$

Détermination du facteur permettant de calculer le nombre de milligrammes de PO^4H^3 , libérés en 1 heure par 1 litre de liquide étudié :

Soit V, le volume exprimé en cm^3 du milieu d'hydrolyse avant le 2^e prélèvement.

Soit Q = milligrammes de PO^4H^3 contenus dans un litre du milieu d'hydrolyse après hydrolyse (filtrat II).

Soit q = milligrammes de PO^4H^3 contenus dans un litre du milieu d'hydrolyse à l'origine (filtrat I).

(1) 5 cc. seulement s'il n'y a pas eu de désalbumination par l'acide trichloracétique.

La quantité de PO^4H^3 en milligrammes libérée dans le temps H dans le milieu d'hydrolyse est :

$$\frac{(Q - q) V}{1000}$$

Cette quantité de PO^4H^3 a été libérée par le volume V du vecteur diastasique (exprimé en cm^3) contenue dans le milieu d'hydrolyse.

1000 cm^3 de ce vecteur auraient provoqué un dégagement de :

$$\frac{(Q - q) V}{v}$$

En ramenant à l'heure, on aura :

$$\frac{(Q - q) V}{H v} = \text{milligrammes de } \text{PO}^4\text{H}^3$$

libérés en 1 heure par 1 litre de vecteur diastasique.

Dans les conditions de la méthode :

$$V = 5 \text{ cm}^3$$

$$v = 0 \text{ cc. } 8333$$

$$H = 24 \text{ heures}$$

$$\frac{(Q - q) 5}{24 \times 0,83} = \frac{(Q - q)}{4}$$

On aura donc le nombre de milligrammes de PO^4H^3 libérés en 1 heure par 1000 cc. de vecteur diastasique en divisant par 4, le poids de PO^4H^3 , en milligr., apparu dans un litre de milieu d'hydrolyse.

Calcul de la correction nécessitée par l'hydrolyse chimique :

L'hydrolyse acide ou alcaline, non diastasique, à 37° , en 24 heures, du β glycérophosphate de Na, correspond à peu près à :

5 unités pour l'hydrolyse alcaline,

0 unité pour l'hydrolyse acide.

Il faudra donc corriger les résultats trouvés dans le dosage de la phosphatase alcaline.

Variations du pH, au cours de l'hydrolyse.

Nous avons recherché si le pH ne subissait pas de modification au cours de l'hydrolyse. Après plusieurs expériences nous avons constaté qu'il y avait très peu de variation au pH 5, et que le pH 9 tendait à s'abaisser vers 8,8 (8,6 ou 8,8 suivant le tamponnement naturel du milieu). Une correction de pH modifierait nos résultats d'une façon négligeable.

UNITÉ D'ACTIVITÉ PHOSPHATASIQUE.

L'unité d'activité diastasique libère en 1 h., à 37°, au pH choisi, 1 milligr. de PO^4H^3 , à partir d'une solution de β glycérophosphate de Na à 1 %.

Ces conditions sont aisément réalisables :

On a choisi le β glycérophosphate de Na parce que c'est l'ester employé par le plus grand nombre d'auteurs.

On se trouve en présence d'un large excès de substrat dédoublable, on évite ainsi de le trouver épuisé au bout du temps d'hydrolyse.

Il est logique d'exprimer l'acide orthophosphorique libéré en PO^4H^3 .

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

TENEUR EN PHOSPHATASES DE QUELQUES SUBSTANCES VÉGÉTALES : FRUITS - GRAINES.

Nous nous sommes attachés à doser les phosphatases dans les parties comestibles de certains fruits. Nous avons, de même parmi les graines, choisi celles qui sont employées couramment dans l'alimentation. Nous avons, en outre, déterminé l'activité diastasique de quelques boissons fermentées.

Travaux antérieurs.

Les phosphatases ont été étudiées par J. COURTOIS [14-15-16] dans un grand nombre de graines. Dans le tableau n° 23, nous avons réuni les résultats trouvés par cet auteur, en les exprimant en Unité Cayla.

Préparation du vecteur diastasique.

I. — FRUITS.

a) *Endocarpes* (orange, citron, pamplemousse, raisins).

Nous avons bien exprimé le suc que nous avons filtré sur du coton de verre plusieurs fois jusqu'à limpidité.

Nous avons fait aussi des expériences sur du jus d'orange et des jus de raisins non filtrés. Certains raisins n'ont pas été lavés. Aussi les phosphatases des levures s'ajoutaient à celles du moût. Nous avons encore opéré sur du jus de citron, après avoir précipité l'acide citrique par CO^3Ca .

b) *Mésocarpes* (poire, pomme, pêche, melon, courge).

Nous avons coupé les fruits en quatre. Après avoir enlevé les noyaux, ou les pépins, et l'endocarpe, nous avons pelé et pesé les morceaux (p. gr.). Nous les avons pilé très finement dans un mortier, prélevé la totalité de la pâte obtenue avec une spatule et réalisé une suspension homogène dans un volume connu d'eau distillée (v cc.).

Calcul du résultat par gramme :

$$1 \text{ cc.} \longrightarrow \frac{p \text{ gr.}}{v \text{ cc.}}$$

$$1.000 \text{ cc.} \longrightarrow \frac{p}{v} \times 1.000 \text{ gr.}$$

Pour avoir le résultat par gramme, il suffit de diviser le résultat par litre trouvé par $\frac{p}{v} \times 1000$.

Nous avons conservé les divers jus de fruits à la glacière après les avoir additionnés de quelques gouttes de chloroforme.

a) Résultats trouvés, en opérant sur les divers
endocarpes de fruits.

(Orange, citron, pamplemousse, raisins.)

Tableau 1. — Jus de *citrus aurantium*, filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus d'orange	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 24 ClH N	127,6	191,4	16
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N	119	149	2,5

Tableau 2. — Jus de *citrus aurantium*, filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus d'orange	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 21 ClH N	72,4	127,6	14
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N	82	83	0

Tableau 3. — Jus de *citrus aurantium*, filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus d'orange	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 22 ClH N	93	117	6
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N	96	96	0

Tableau 4. — Jus de **citrus aurantium**, non filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus d'orange	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 50 ClH N	114	148	8,5
pH 9 : 0 cc. 40 NaOH N	114	124	0

Tableau 5. — Jus de **citrus limonum**, filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de citron	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 60 ClH N	40	114	18,5
pH 9 : 1 cc. 95 NaOH N	40	93,7	8,4

Tableau 6. — Jus de **citrus limonum**, filtré.
acide citrique précipité par CO³Ca.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de citron	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 10 ClH N	62	86	6
pH 9 : 0 cc. 35 NaOH N	69	65,5	0

Tableau 7. — Jus de **citrus limonum**,
non filtré et non précipité par CO_3Ca (1)

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO_4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de citron	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 70 ClH N	72,5	82,8	2,5
pH 9 : 2 cc. NaOH N	75,9	107	3

Tableau 8. — Jus de **citrus decumana**, filtré.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO_4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de pamplemousse	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 20 ClH N	69	114	11,5
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N	69	76	0

Mouûts des **fruits du vitis vinifera**, diverses variétés.

Tableau 9. — Jus de **terret-bourret**, non lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO_4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 45 ClH N	34,5	84,5	12,5
pH 9 : 0 cc. 20 NaOH N	34	36	0

(1) Il existait, dans ce cas, des substances qui ont gêné soit l'hydrolyse, soit la molybdo-colorimétrie.

Tableau 10. — Jus de **saint-jeannet**, non lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	40,4	362,9	80,5
pH 9 : 0 cc. 27 NaOH N	38,3	41,8	0

Tableau 11. — Jus de **servent**, non lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	96,6	151,8	14
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	86,2	161,5	14

Tableau 12. — Jus de **muscat**, non lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	72,5	182,9	27,5
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	69	345	64

Tableau 13. — Jus de **muscat** non lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	100	182,9	21
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	100	414	73

Tableau 14. — Jus de **servent**, lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	100	134,5	85
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	89,7	172,5	16

Tableau 15. — Jus de **muscat**, lavé.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de jus de raisin	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	93,2	172,5	20
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	96,6	458,8	85

b) **Résultats trouvés en opérant sur divers mésocarpes de fruits**
(poire, pomme, pêche, melon, courge.)

Tableau 16. — **Pirus communis**, variété sucrée de Montluçon.

Nous avons pesé 81 gr. 5 de poire que nous avons portés à 200 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	61	458,9	99,5	0,24
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	61	258,8	44	0,11

Tableau 17. — **Malus communis**, variété reinette du Vigan.

Nous avons pesé 93 gr. de pomme que nous avons portés à 350 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	56,2	89,3	8	0,03
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	51	86,3	4	0,015

Tableau 18. — **Prunus persica**, pelée (alberge).

Nous avons pesé 72 gr. 3 de pêche que nous avons portés à 200 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	65,5	207	35	0,1
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	65,5	327,8	60	0,16

Tableau 19. — **Prunus persica**, non pelée (alberge).

Nous avons porté 65 gr. 8 de pêche à 238 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	113,8	258,8	41	0,15
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	103,5	434,7	78	0,28

Tableau 20. — **Cucumis melo** (melon rouge charentais).

Nous avons porté 82 gr. 4 de melon à 200 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		

pour obtenir :

pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	96,3	517,5	105	0,25
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	96,3	269	38	0,09

Tableau 21. — **Cucumis melo** (melon blanc d'Espagne).

Nous avons porté 50 gr. de melon à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		

pour obtenir :

pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	138	517	94	0,19
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	79,4	400	75	0,15

Tableau 22. — **Cucurbita pepo**.

Nous avons porté 74 gr. de courge à 250 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		

pour obtenir :

pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	81,4	338	64	0,21
pH 9 : 0 cc. 45 NaOH N/10	62	65,6	0	0

II. — GRAINES ALIMENTAIRES

(Pois, lentille, haricot, poivre.)

Nous avons broyé les diverses graines dans un moulin, puis nous avons tamisé la poudre obtenue, nous en avons pesé une certaine quantité (p gr.) et nous avons réalisé une suspension homogène de volume connu (v cc.) avec de l'eau distillée.

Nous avons dosé les phosphatases sur l'ensemble de la suspension, additionnée de chloroforme et conservée à la glacière.

Travaux antérieurs.

Tableau 23. — **Poudres fermentaires**, d'origine végétale.

(COURTOIS J. [14].)

U par gramme.

Taka-diastrase en poudre (PARKE-DAVIES)	102
Emulsine d'amandes douces (technique HERISSEY)	60
Diastrase de l'orge germée (<i>Codex</i>)	25
Sucrase de levure basse (technique BOURQUELOT)	22

Macérations de poudres de **graines** dans l'eau avec 0,5 %
de toluène pendant 10 jours (COURTOIS [14-15-16]).

Graines de :

*U par gr. de
poudre de graine*

Chelidonium majus ($\beta > \alpha$) (1)	6,5
Papaver somniferum album ($\beta > \alpha$)	5,4
Sinapis alba ($\beta > \alpha$)	4,2
Cochlearia officinalis ($\beta = \alpha$)	3,2
Brassica oleracea ($\beta > \alpha$)	3,2
Triticum sativum ($\beta = \alpha$)	2,8

(1) ($\beta > \alpha$) veut dire : hydrolyse plus rapidement le β glycérophosphate de Na que l' α).

Soja hispida ($\beta > \alpha$)	2,6
Phaseolus vulgaris ($\beta = \alpha$)	2,5
Linum usitatissimum ($\beta > \alpha$)	2,0
Tropeolum majus ($\beta = \alpha$)	1,9
Lepidium sativum ($\beta = \alpha$)	1,7
Brassica napus ($\beta > \alpha$)	1,5
Pisum sativum ($\beta = \alpha$)	1,1
Raphanus sativus ($\beta = \alpha$)	0,8
Hordeum vulgare ($\beta = \alpha$)	0,6

Tableau 24. — **Pisum sativum.**

Nous avons porté 2 gr. de poudre de pois à 50 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO_4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	82,8 107	6	0,15
pH 9 : 0 cc. 20 NaOH N/10	72,4 110	4,5	0,11

Tableau 25. — **Lens esculenta.**

Nous avons porté 2 gr. de poudre de lentilles à 50 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO_4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	72,5 169	24	0,60
pH 9 : 0 cc. 20 NaOH N/10	71,7 152	15	0,37

Tableau 26. — *Phaseolus vulgaris*.

Nous avons porté 1 gr. de poudre de haricot à 30 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO^4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	72 124	13	0,39
pH 9 : 0 cc. 20 NaOH N/10	78,3 89,7	0	0

Tableau 27. — *Piper nigrum*.

Nous avons porté à 0 gr. 17 de poudre de poivre à 20 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO^4H^3 par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	75,9 207	33	3,88
pH 9 : 0 cc. 10 NaOH N/10	79,4 73,8	0	0

Nous avons de plus dosé les phosphatases sur de la farine de boulanger (1) et sur du pain fait avec cette même farine. Pour le pain, nous avons utilisé la mie prise au centre.

La cuisson a fait disparaître la phosphatase acide qui existait, au préalable dans la farine.

(1) Cette farine est de la farine de blé pure. La recherche microscopique de la pureté de la farine a été faite par M. SUSPLUGAS, chef de travaux pratiques à la Faculté de Pharmacie, qui a eu l'obligeance de nous aider dans notre travail.

Tableau 28. — **Triticum sativum.**

Nous avons porté 1 gr. de farine de blé à 25 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat.	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	69	289,8	55,2	1,38
pH 9 : 0 cc. 05 NaOH N/10	79,4	100	0	0

Tableau 29. — **Mie de pain.**

Nous avons pesé 2 gr. de mie de pain que nous avons mélangés avec 50 cc. d'eau distillée, dans un mortier.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre	Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.		
pour obtenir :				
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	69	72,5	0	0
pH 9 : 0 cc. 05 NaOH N/10	69	69	0	0

III. — BOISSONS.

Nous avons cherché en outre la teneur en phosphatase dans quelques boissons fermentées (bière, vin blanc et vin rouge).

Tableau 30. — **Bière.**

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de bière	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	169	207	9,5
pH 9 : 0 cc. 75 NaOH N/10	172,5	189,8	0

Tableau 31. — Vin blanc.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de vin blanc	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 20 ClH N	88,8	293,3	51
pH 9 : 1 cc. 95 NaOH N/10	86,3	127,7	5

Tableau 32. — Vin rouge.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de vin rouge	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 25 ClH N	100	152	13
pH 9 : 2 cc. NaOH N/10	96,6	75,9	0

Nous avons réuni, en deux tableaux, les résultats qui viennent d'être exposés en détail dans ce chapitre. Les résultats ont été exprimés par gramme et centimètre cube de façon à ce que les activités phosphatasiques des diverses substances végétales étudiées puissent être comparées.

Teneur en phosphatases de diverses substances végétales alimentaires.

CLASSIFICATION SUIVANT LA TENEUR EN PHOSPHATASE ACIDE :

	Unité par gr. ou cc.
Piper nigrum (graine entière)	3,88
Triticum sativum (périsperme)	1,38
Lens Esculenta (graine entière)	0,60

Phaseolus vulgaris (graine entière)	0,39
Cucumis melo (melon rouge = mésocarpe)	0,25
Pirus communis (mésocarpe)	0,24
Cucurbita pepo (mésocarpe)	0,21
Cucumis melo (melon blanc = mésocarpe)	0,19
Pisum sativum (graine entière)	0,15
Prunus persica (alberge : mésocarpe et épicarpe)	0,14
Prunus persica (alberge : mésocarpe)	0,09
Fruit du vitis vinifera (variété saint-jeannet : moût) ...	0,08
Malus communis (mésocarpe)	0,03
Fruit du vitis vinifera (variété muscat de Hambourg : moût)	0,025
Citrus aurantium (jus)	0,014
Fruit du vitis vinifera (variété terret-bourret : moût).	0,012
Citrus limonum (jus)	0,012
Citrus decumana (jus)	0,011
Fruit du vitis vinifera (variété servent : moût)	0,010

CLASSIFICATION SUIVANT LA TENEUR EN PHOSPHATASE ALCALINE

Unité par gr. ou cc.

Lens esculenta (graine entière)	0,37
Prunus persica (alberge : mésocarpe et épicarpe)	0,28
Prunus persica (alberge : mésocarpe)	0,16
Cucumis melo (melon blanc : mésocarpe)	0,15
Pisum sativum (graine entière)	0,11
Pirus communis (mésocarpe)	0,10
Cucumis melo (melon rouge : mésocarpe)	0,09
Fruit du vitis vinifera (variété muscat de Hambourg : moût)	0,068
Fruit du vitis vinifera (variété servent moût).....	0,015
Malus communis (mésocarpe)	0,010

Piper nigrum (graine entière)	0
Phaseolus vulgaris (graine entière)	0
Triticum sativum (périsperme)	0
Citrus aurantium (jus)	0
Citrus limonum (jus)	0
Citrus decumana (jus).....	0
Cucurbita pepo (mésocarpe)	0
Fruit du vitis vinifera (var. terret-bourret : moût)	0
Fruit du vitis vinifera (var. saint-jeannet : moût)	0

En résumé, nos dosages nous ont permis d'établir les faits suivants :

1° *Toutes les substances végétales étudiées contiennent de la phosphatase acide.*

2° *Les graines contiennent la plus grande quantité de phosphatase.*

Les mésocarpes des fruits sont assez riches.

Les jus de fruit en contiennent très peu.

3° *La moitié environ des substances végétales étudiées ne contiennent pas de phosphatases alcalines.*

Quelques graines et quelques mésocarpes de fruits en contiennent une quantité assez importante.

CHAPITRE II

TENEUR EN PHOSPHATASES DE QUELQUES ORGANES ANIMAUX (organes frais et extraits commerciaux) DE LA BILE, DES SÉRUMS FRAIS ET DES SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES.

Nous avons surtout étudié les phosphatases hépatiques et biliaires. Cette étude présente, en effet, un grand intérêt, étant donné le rôle que l'on fait jouer aux phosphatases biliaires dans l'absorption du calcium et du phosphore [II].

Par comparaison, nous avons étudié la teneur en phosphatases de divers extraits d'organes pour voir si ces diastases résistaient aux procédés industriels de préparation.

Nous avons étudié de même les sérums frais et les sérums thérapeutiques pour nous rendre compte de l'effet du procédé de préparation et du vieillissement.

Travaux antérieurs.

Il existe de nombreux dosages de phosphatases. Nous avons réuni dans les tableaux 33, 34 et 35, quelques-uns des résultats obtenus par divers auteurs.

Tableau 33. — Teneur en phosphatases de quelques **organes et tissus de lapin** (ROBISON [38]) (mesurée par l'action de la phosphatase sur le glycérophosphate de K).

Résultats exprimés en pourcentage d'ester dédoublé, dans un temps donné, pour un même poids de tissu frais.

Cartilage ossifiable (fémur)	56
Foie	24
Rein	20
Rate	14
Sang total	8
Cartilage costal	6
Pancréas	6
Muscle	2

Tableau 34. — Classification de quelques **tissus** suivant leur teneur en phosphatase agissant à leur pH optimum sur du β glycérophosphate de Na (J. ROCHE [39]).

Phosphore % du P lié,
libéré en 1 h., à 37°.

Phosphatase de l'intestin	44,4
Phosphatase de l'os	41,4
Phosphatase du rein	12
Phosphatase des leucocytes (1)	5,3
Phosphatase du sérum (1)	2,7
Phosphatase des hématies (1)	0,7

(1) Sang de cheval.

Tableau 35. — Teneur en phosphatases de différents **organes et tissus humains** (KAY H. D. [24]) (*mesurée par leur action sur le $\frac{1}{2}$ glycérophosphate de Na au pH optimum du tissu étudié*).

	Unités par gramme de tissu frais :
Muqueuse iléale	20,8
Muqueuse jéjunale	17,6
Muqueuse duodénale	11,8
Epithélium rénal	6,2
Muqueuse colique	5,6
Surrénale	2
Poumon	1,5
Rate	1,5
Foie	1,2
Cerveau	0,9
Muqueuse gastrique	0,8
Parois artérielles	0,15
Sérum normal : Enfants	0,02
Adultes	0,01

A. — FOIE FRAIS ET PRÉPARATIONS INDUSTRIELLES.

BILE ET PRÉPARATION INDUSTRIELLE.

Préparation du vecteur diastasique.

a) FOIE. — Nous avons pris du foie de veau que nous avons coupé en petits morceaux. Nous les avons soigneusement lavés avec du sérum physiologique à 9 gr. de NaCl ‰, pour les débarrasser de tout le sang. Nous avons égoutté, séché sur du buvard et nous avons pesé une certaine quantité de foie : p gr. Nous l'avons ensuite mis dans un mortier et broyé avec de la silice pure. Nous avons amené à un volume connu : v cc. avec de l'eau distillée. Nous avons additionné le tout de 5 gouttes

de chloroforme et nous avons dosé les phosphatases sur le produit de décantation.

Le calcul des résultats est identique à celui effectué pour le dosage des divers mésocarpes de fruits.

Si U = unités par litre et u = unités par gramme,

$$u = \frac{U}{\frac{p}{v} \times 1000}$$

Nous avons ensuite effectué des dosages sur :

1) *de l'extrait hépatique buvable* (1) :

Nous en avons pris 1 cc. que nous avons dilué au 1/10^e avec de l'eau distillée.

2) *de l'extrait hépatique Choay* (2) :

Nous avons opéré sur des poudres d'organes qui correspondent aux Extraits Totaux.

Suivant la méthode de préparation E. CHOAY [12] : concentration par le vide, à froid, en présence de substances avides d'eau, la dessiccation extrêmement rapide des organes broyés ne doit amener, d'après cet auteur, aucune altération de ces organes et l'on peut dire que les produits obtenus représentent la totalité du produit initial.

En nous servant de ces poudres d'organes ainsi préparées, nous avons voulu vérifier si les phosphatases n'étaient pas détruites.

Nous avons mis dans un ballon 1 gramme de poudre d'organe en suspension dans 100 cc. d'eau distillée, nous avons bien agité le ballon, de façon à obtenir une suspension homogène dont nous avons prélevé un volume connu pour effectuer le dosage.

(1) Hépacrine Debat.

(2) Nous tenons à remercier ici M. A. CHOAY, qui a mis si aimablement à notre disposition les diverses poudres d'organes que nous lui avons demandées.

3) Une solution injectable foie (1) :

Les solutions injectables sont obtenues par macération de glandes fraîches ou desséchées, dans un dissolvant approprié, et à une certaine température. Débarrassées des albumines, suivant le cas délipoidées, elles sont ensuite stérilisées à 100°.

Nous avons constaté que ces diverses opérations entraînaient la disparition des phosphatases.

Tableau 36. — Foie frais de veau.

Nous avons amené 54 gr. 4 de foie frais de veau à 250 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 40 ClH N	155,3	182,9	0,03
pH 9 : 0 cc. 30 NaOH N/10	169	355,4	0,18

Tableau 37. — Extrait hépatique buvable (2)

(Dilution au 1/10^e)

1 ampoule de 12 cc. correspond à 100 gr. d'organe frais.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 60 ClH N	202,8	256,5	0,016 (3)
pH 9 : 0 cc. 90 NaOH N/10	229,8	275	0,013

(1) Laboratoire Fournier.

(2) Hépacrine Debat.

(3) Nous voyons que le procédé Debat a fortement diminué la teneur en phosphatase de ce produit.

Tableau 38. — **Extrait hépatique (1)**

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	69	186,3	2,90 (2)
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	55,2	89,7	0,36

Tableau 39. — **Solution injectable de foie (3)**

Extrait sec de foie : quantité correspondant à 1 gr. de glande
sérum isotonique : 2 cc.

Nous avons opéré sur une dilution au 1/10^e.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	61,6	58,6	0 (4)
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	62	58,6	0

(1) Laboratoire Choay.

(2) Les phosphatases n'ont pas été détruites ; les résultats sont exprimés par gramme d'organe sec ; la présence de phosphatase acide, peut s'expliquer par le fait que les organes n'ont pas été débarrassés du sang par le lavage.

(3) Laboratoire Fournier.

(4) Les procédés de préparation ont amené la destruction des phosphatases.

b) BILE.

Nous avons utilisé, pour nos dosages, de la bile de porc, fraîchement prélevée et conservée à la glacière, en présence de quelques gouttes de chloroforme.

Nous avons ensuite effectué un dosage sur de l'extrait biliaire Choay.

Tableau 40. — Bile fraîche de porc (1)

Nous avons opéré sur une dilution au 1/20^e avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par cc.
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	24,15 58,7	172	0,17
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	24,15 69	219	0,21

Tableau 41. — Bile fraîche de porc (1)

Dosage effectué sur une dilution au 1/20^e avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre	Unités par cc.
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.		
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	11,4 42,1	153	0,15
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	13,2 49	173	0,17

(1) La bile est une sécrétion très riche en phosphatase, ce qui explique d'une part l'augmentation de la phosphatasémie dans les rétentions biliaires, ce qui justifie d'autre part le rôle que lui fait jouer J. CAYLA au niveau de l'intestin grêle (11).

Tableau 42. — **Extrait biliaire (1).**

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme de poudre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	36,2	51	0,37
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	34,5	61	0,16

B. — TENEUR EN PHOSPHATASES DE QUELQUES
AUTRES EXTRAITS OPOTHÉRAPIQUES TOTAUX (1)

Tableau 43. — **Extrait splénique.**

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme de poudre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	55,9	227,7	4,29
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	60,4	123,2	1,07

(1) Laboratoire Choay.

Tableau 44. — Extrait de suc gastrique.

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	38	55,2	0,43
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	40	58,6	0

Tableau 45. — Extrait de moelle osseuse.

Nous avons amené 1 gramme de poudre totale à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	207	239	0,80
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	172,5	196,5	0,10

Tableau 46. — Extrait mammaire.

Nous avons amené 1 gr. de poudre totale non dégraissée à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	92,5	172,5	2,00
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	79,35	166,65	1,68

Tableau 47. — Extrait thyroïdien.

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	30	140	2,75
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	24,15	51,75	0,19

Tableau 48. — Extrait thymique.

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc 35 ClH N	41,4	96,6	1,40
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	38	102,5	1,10

Tableau 49. — Extrait d'ant-hypophyse.

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	26,6	138	2,78
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	27,6	69	0,53

Tableau 50. — Extrait de post-hypophyse.

Nous avons amené 1 gr. de poudre à 100 cc. avec de l'eau distillée.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	32	103,5	1,80
pH 9 : 0 cc. 15 NaOH N/10	23	72	0,73

C. — SÉRUMS FRAIS DE CHEVAL, DE BŒUF, DE PORC,
ET SÉRUMS THÉRAPEUTIQUES (*hémostyl, gravidostyl*)
ACTION SUR LES PHOSPHATASES DE LA CHALEUR
ET DU VIEILLISSEMENT

Préparation du vecteur diastasique.

Nous avons centrifugé successivement du sang de bœuf, de cheval, de porc, fraîchement prélevé. Nous avons effectué le dosage sur les divers sérums obtenus, chloroformés et conservés à la glacière.

Tableau 51. — Sérum frais de cheval.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par gramme
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 45 ClH N	69	110	10,4
pH 9 : 1 cc. 50 NaOH N/10	57	210	33,3

Tableau 52. — Sérum frais de bœuf.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 60 ClH N.	59	62	0
pH 9 : 1 cc. 20 NaOH N/10	62	127,5	11,5

Tableau 53. — Sérum frais de porc.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 50 ClH N	38	172,5	33,6
pH 9 : 1 cc. 20 NaOH N/10	41,5	196,5	34

L'hémostyl et le gravidostyl (laboratoire Roussel) subissent plusieurs tyndallisations successives à 50°, au cours de leur préparation. De ce fait nous verrons que les phosphatases se trouvent détruites.

Tableau 54. — Sérum normal de jument gravide (1)

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 50 ClH N	66	70	1
pH 9 : 0 cc. 90 NaOH N/10	62	69	0

— — — —

(1) Gravidostyl du docteur Roussel.

Tableau 55. — **Sérum frais de cheval**, prélevé sur l'animal, au moment de la régénération globulaire.

Année 1936.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 70 ClH N	62	63	0
pH 9 : 0 cc. 80 NaOH N/10	61	73	0

Tableau 56. — **Hémostyl (vieux) (1)**.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 9 : 0 cc. 60 NaOH N/10	110	115	0

A l'instigation de M. le professeur CRISTOL, nous avons recherché quelles pouvaient être les modifications apportées au taux des phosphatases, au cours de la préparation des sérums thérapeutiques et de leur vieillissement.

Nous avons effectué des dosages sur de vieux sérums antidiphthériques de 1920. de 1932, et les résultats ont été négatifs.

Tableau 57. — **Sérum antidiphthérique (1920)**.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 9 : 0 cc. 80 NaOH N/10	76	83	0

(1) Hémostyl du docteur Roussel.

Tableau 58. — **Sérum antidiphthérique** (1932).

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 9 : 0 cc. 80 NaOH N/10	102	103	0

Comme pour les phosphatases des substances végétales, nous avons réuni, en deux tableaux, les résultats que nous avons donnés en détail dans ce chapitre. Les résultats ont été exprimés par gramme de poudre.

*EXTRAITS D'ORGANES ET DE SUCS DIGESTIFS,
CLASSÉS SUIVANT LA TENEUR
EN PHOSPHATASE ACIDE*

Unités par gramme.

Rate	4,29
Foie	2,90
Ant-hypophyse	2,78
Thyroïde	2,75
Glande mammaire	2,00
Post-hypophyse	1,80
Thymus	1,40
Moelle osseuse	0,80
Suc gastrique	0,43
Bile	0,37

CLASSIFICATION DES DIVERS EXTRAITS D'ORGANES
ET DE SUCS DIGESTIFS
BASÉE SUR LEUR TENEUR EN PHOSPHATASE
ALCALINE

	<i>Unités par gramme</i>
Glande mammaire	1,68
Thymus	1,10
Rate	1,07
Post-hypophyse	0,73
Ant-hypophyse	0,53
Foie	0,36
Thyroïde	0,19
Bile	0,16
Moelle osseuse	0,16
Suc gastrique	0,00

CHAPITRE III

LES PHOSPHATASES A TRAVERS L'ORGANISME

Dans nos divers dosages, nous avons déterminé la teneur en phosphatases d'un certain nombre de substances. Ces phosphatases pourront-elles être utilisées et conservent-elles toute leur activité dans leur organisme ?

D'une part, nous avons remarqué que, par la cuisson, lors de la fabrication du pain, la phosphatase acide contenue dans la farine de blé disparaît totalement ; en effet, la mie de pain prise au centre ne renferme plus de phosphatase.

De même, les phosphatases des graines alimentaires vont être détruites au moment de la cuisson. Les lentilles, les pois qui renferment des phosphatases acides et alcalines, les haricots qui contiennent une phosphatase acide, qui sont portés à l'ébullition pendant plusieurs heures, subiront une destruction totale de leur activité diastasique.

Le poivre qui renferme une grande quantité de phosphatase acide, n'étant consommé qu'en très faible quantité, n'introduira pas dans l'organisme un grand nombre d'unités diastasiques.

Les sérums thérapeutiques, les solutions injectables qui subiront plusieurs tyndallisations perdent aussi de leur activité phosphatasique.

La pasteurisation détruit également la phosphatase ; d'ailleurs, l'inactivation de la phosphatase par pasteurisation a été utilisée par KAY et GRAHAM [25] (1935) comme test de vérification de la pasteurisation.

D'autre part, les substances renfermant des phosphatases, qui sont habituellement absorbées sans préparation préalable, susceptible d'entraîner la destruction de la diastase — les jus de fruits, les divers extraits opothérapiques, le foie cru, par exemple — conserveront-elles leur activité diastasique à travers l'organisme ?

Il faut tout d'abord tenir compte de la température : certaines diastases sont détruites à 37° ; par exemple, les phosphatases des cœlentérés, de pH optimum 5,4 à 5,6, sont détruites à une température supérieure à 30° [34].

Les phosphatases arrivant dans le tube digestif ne sont pas détruites dans l'estomac. C'est ce que nous avons vérifié en réalisant une digestion artificielle pepsique sur des milieux riches en phosphatases (moût de raisin, variété saint-jeannet).

DIGESTION PEPSIQUE

Elle doit se faire à un pH voisin de 2 avec du bleu de bromophénol.

Préparation du suc gastrique artificiel à 4 ‰.

ClH pur	0 cc. 35
H ² O q. s. p.	50 cc.
Pepsine en paillettes	0 gr. 20

Nous avons mis à parties égales dans un tube, du liquide à digérer et du suc gastrique et nous avons porté à l'étuve à 37°, pendant une demi-heure. Nous avons ensuite déterminé le pH du milieu après cette digestion pepsique artificielle et nous avons effectué les dosages en pH 5 et en pH 9.

Tableau 59. — **Moût de raisin** (variété saint-jeannet)
après digestion pepsique.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)		Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h.	24 h.	
pour obtenir :			
pH 5 : 0 cc. 35 ClH N	68	112	11
pH 9 : 0 cc. 25 NaOH N	67	108	5

Les phosphatases acides arrivant au niveau de l'estomac pourront agir et aider les phosphatases acides contenues normalement dans le suc gastrique (1).

Les phosphatases qui pourront agir au pH de l'intestin, qui est voisin de la neutralité, parviendront à ce niveau du tube digestif. On sait que les glycéro-phosphatases de l'organisme agissent non seulement au niveau de la muqueuse intestinale, mais aussi dans le contenu même du tube digestif, car on peut constater leur présence dans le suc intestinal pur, privé de cellules par filtration, sur le filtre Berkefeld [13] (2).

Nous avons vérifié également que les phosphatases venant de l'extérieur et arrivant au niveau de l'intestin n'étaient pas détruites.

Nous avons pour cela réalisé une digestion pancréatique artificielle sur le moût de raisin (variété saint-jeannet).

(1) Tableau 44.

(2) J. CAYLA a dosé les phosphatases dans un liquide duodénal recueilli par tubage, chez un individu normal. Ce liquide est riche en phosphatase ; il contient, en effet, 110 unités phosphatasiques au pH 7,6.

DIGESTION PANCRÉATIQUE.

Nous avons mis dans un tube :

Liquide à digérer	50 cc.
CH Cl ³	V gouttes
CO ³ Na ²	0 gr. 25
Pancréatine	0 gr. 10

Nous avons laissé une demi-heure à l'étuve à 37°. Après avoir déterminé le pH du milieu, nous avons effectué les dosages en pH 5 et en pH 9 de ce milieu.

Tableau 60. — **Moût de raisin** (variété saint-jeannet)
après digestion pancréatique.

Ajouter à 10 cc. de solution à hydrolyser	PO ⁴ H ³ par litre (dans le milieu d'hydrolyse)	Unités par litre
+ 1 cc. de substrat	0 h. 24 h.	
pour obtenir :		
pH 5 : 0 cc. 75 ClH N	60 276	54
pH 9 : 0 cc. NaOH	56 138	15,5

On ne sait pas si les phosphatases traversent la muqueuse intestinale ; il est possible et même probable qu'elles soient absorbées : l'élimination urinaire des phosphatases étant accrue après les repas, WOLBERG H. [43] pense qu'elle est d'origine alimentaire.

Dans l'organisme, les phosphatases régissent divers métabolismes, elles déterminent l'absorption et l'élimination des composés phosphato-calciques et elles jouent un rôle important dans l'ostéogénèse et l'ostéolyse.

Mais nous ignorons si les phosphatases qui agissent sont seulement celles qui sont contenues normalement dans l'organisme ou bien si les phosphatases contenues dans les substances ingérées viennent renforcer leur action.

Des recherches devraient être faites à ce sujet. Mais il est probable que les phosphatases absorbées renforcent l'action des phosphatases existant déjà dans divers organes humains.

Les phosphatases sont éliminées surtout par la bile, c'est ce qui explique que les ictères par rétention biliaire soient toujours accompagnés d'une hyperphosphatémie considérable.

Elles sont de plus éliminées par le rein, mais cette élimination est moins importante. L'urine normale contient des phosphatases [19-43]. On trouve aussi des phosphatases dans l'urine pathologique, cependant dans le cas des néphrites, il n'y a qu'une faible augmentation des phosphatases.

Elles sont encore accessoirement éliminées par certaines glandes exocrines : l'urine nocturne est plus riche en phosphatases chez l'homme à cause du mélange avec du liquide prostatique [43].

Il se peut que d'autres sécrétions (sueur, sécrétion vaginale) contiennent aussi des phosphatases. Nous n'avons pu réaliser des recherches dans ce sens.

Les phosphatases sont des diastases qui peuvent se former dans l'organisme : il n'existe donc pas de carence en phosphatase. Cependant, il se peut que les affections hépatiques entraînent une mauvaise absorption intestinale des phosphates et du calcium, par une élimination biliaire défectueuse de l'intestin.

Dans ce cas, si la théorie est vérifiée, on conçoit l'utilité d'une médication riche en phosphatases.

Les fruits (jus ou mésocarpe) qui renferment tous de la phosphatase acide, quelques-uns même de la phosphatase alcaline, les divers extraits opothérapiques, notamment des extraits hépatiques et biliaires, le foie cru seraient utilement employés.

Si toutes ces hypothèses sont vérifiées, il est possible qu'un jour les dosages exposés ici trouvent, en thérapeutique, une application pratique.

CONCLUSIONS

1° Les substances d'origine végétale contiennent toutes de la phosphatase acide.

2° Un grand nombre de végétaux renferment aussi de la phosphatase alcaline, certains même contiennent davantage de phosphatase alcaline que de phosphatase acide.

3° Les graines sont les organes végétaux les plus riches en phosphatases.

4° La bile est très riche en phosphatase, ce qui n'est pas contraire à la théorie phosphatasique de l'adsorption phosphato-calcique.

5° La concentration par le vide, à froid, et la dessiccation rapide en présence d'une substance avide d'eau, n'altère pas les phosphatases contenues dans les organes animaux.

6° L'ébullition, la tyndallisation, la chaleur détruisent les phosphatases.

7° La digestion pepsique et la digestion pancréatique ne détruisent pas les phosphatases.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 AHLERS (H. et E.). — Sur les Phosphatases de la levure. — *Z. physiol. chem.*, 1935, t. 235, p. 47-61.
- 2 BAMANN (E.), RIEDEL (E.) et DIETRICH. — Sur la mise en liberté des phospho-estérases hépatiques. — *Z. physiol. chem.*, 1934, t. 230, p. 175-184.
- 3 BAMANN (E.), RIEDEL (E.). — Sur la présence dans les organes animaux de deux phosphatases présentant un pH optimum différent. — *Z. physiol. chem.*, 1934, t. 229, p. 125-150.
- 4 BELFANTI (S.), CONTARDI (A.) et ERCOLI (A.). — Etude sur les phosphatases. I. L'influence de certains électrolyses sur les phosphatases des tissus animaux. Phosphatases du foie, du rein, du sérum et des os chez le lapin. — *Biochem. J.*, 1935, t. 29, p. 517-527.
- 5 BELFANTI (S.), CONTARDI (A.) et ERCOLI (A.). — Recherches sur les phosphatases. II. Inactivation et réactivation des phosphatases des organes animaux. — *Biochem. J.*, 1935, t. 29, p. 842-846.
- 6 BODANSKY (A.). — Phosphatases studies. I. Determination of inorganic phosphate. Beer's law and interfering substances in the Kuttner-Lichtiensten Method. — *Journ. Biol. Chem.*, 1933, t. 99, p. 197-206.
- 7 BODANSKY (A.). — Phosphatases studies. II. Determination of serum phosphatase. Factors influencing the accuracy of

- the determination. — *Journ. Biol. Chem.*, 1933, t. 101, p. 93-104.
- 8 CAYLA (J.). — Recherches sur les orthophosphates minéraux des humeurs. Dosage. Répartition. Evolution. — *Thèse de Médecine Montpellier*, 1934, n° 44, p. 155-167.
- 9 CAYLA (J.). — Détermination de l'activité phosphatasique du sang total, du plasma ou du sérum. — *Bull. de la Soc. Chim. biol.*, t. 17, n° 12, décembre 1935.
- 10 CAYLA (J.). — Sur le dosage des orthophosphates inorganiques dans les milieux biologiques. — *Montpellier Médical*, 1934, 3^e série, t. 6, n° 2, p. 107-115.
- 11 CAYLA (J.). — Physiopathologie de l'absorption du calcium et des phosphates. — *Progrès Médical*, n° 43, octobre 1935.
- 12 CHOAY (E.). — Des extraits opothérapiques. Mode de préparation. Rendements. Posologie. Activités diastasiques. — *Thèse de Pharmacie Paris*, 1911, p. 15-33.
- 13 CLEMENTI (A.). — Sur un nouveau ferment propre du suc entérique : la phosphoglycérase. — *Archiv. inter. Physiol.*, 1923, t. 22, p. 121.
- 14 COURTOIS (J.). — Hydrolyse comparée des acides α et β glycérophosphoriques par diverses phosphatases végétales. I. Influence de l'origine du ferment et du pH. — *IV^e Congrès de Ch. biol. Paris*, novembre 1933, p. 388-403.
- 15 COURTOIS (J.). — Influence de la réaction du milieu sur l'hydrolyse des acides α et β glycérophosphoriques par la taka-diastase. — *C. R. Ac. Sc.*, 1934, t. 199, p. 95.
- 16 COURTOIS (J.). — Hydrolyse comparée des acides α et β glycérophosphoriques par diverses phosphatases végétales. II. Etude de la taka-diastase. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1935, t. 17, p. 1318-1339.
- 17 CRISTOL (P.) et CAYLA (J.). — Phosphatémie et Phosphatasémie. — *Bull. des Biologistes Pharmaciens*, 1936, n° 33, p. 174.

- 18 DAVIES (D. R.). — L'activité de la phosphatase des extraits de rate. — *Biochem. Journ.*, 1934, t. 28, p. 529-536.
- 19 DMOCHOWSKI (A.). — Sur les phosphatases de l'urine. — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 113, p. 956.
- 20 FOLEY (S. J.) et KAY (H. D.). — La phosphomonoestérase alcaline de la glande mammaire. — *J. Biol. chem.*, 1935, t. 29, p. 1837-1850.
- 21 GROSSER (P.) et HUSLER (J.). — Veber das Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierschen Organem. — *Biochem. Z.*, 1912, t. 39, p. 1.
- 22 KAY (H. D.). — Plasma Phosphatase. I. Method of determination Some properties of the enzyme. — *Journ. Biol. chem.*, 1930, t. 89, p. 235-247.
- 23 KAY (H. D.) and LEE (E.). — The rate of hydrolysis of α and β glycerophosphate by enzymes. — *Journ. Biol. chem.*, 1931, t. 91, p. 135-146.
- 24 KAY (H. D.). — The phosphatases of mammalian tissus. — *Journ. Biol. chem.*, 1928, t. 22, p. 855.
- 25 KAY (H. D.) and GRAHAM (W. R.). — *J. Dairy Reseach*, 1935, t. 6, p. 191.
- 26 KING et ARMSTRONG. — Méthode de dosage de phosphatases au phényl-phosphate. — *Canad. Med. Assoc. J.*, 1934, t. 31, p. 376.
- 27 KUTSCHER (W.). — Sur la phosphatase de l'urine. — *Z. Physiol. chem.*, 1935, t. 235, p. 62-73.
- 28 KUTSCHER (W.) et WÖRNER (A.). — Sur la phosphatase de l'urine. — *Z. Physiol. Chem.*, 1936, t. 238, p. 275-279.
- 29 LABBÉ (M.) et FABRYKANT (M.). — Le Phosphore. Techniques chimiques. Physio-Pathologie. Thérapeutique. — *Masson Paris*, 1933, p. 75-102.
- 30 LOEWY (G.). — Recherches expérimentales sur le pH du contenu

- duodéal à l'état normal. — *C. R. Soc. biol.*, 1935, t. 119, p. 286.
- 31 LOEWY (G.). — Recherches expérimentales sur le pH du contenu duodéal en l'absence de bile. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 139, p. 382.
- 32 LOEWY (G.). — Recherches expérimentales sur le pH du contenu duodéal en l'absence de suc pancréatique. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 139, p. 490.
- 33 LOEWY (G.). — Influence de la déperdition de bile sur quelques éléments du sang. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 119, p. 178.
- 34 NORRIS (E. R.), RAMA RAO (D. A. R.). — Phosphatases des Invertébrés marins. — *J. Biol. chem.*, 1935, t. 108, p. 783-790.
- 35 PALMER (L. S.) et NELSON (J. W.). — Comparaison des méthodes Jenner-Kay et de Bodansky pour le dosage de la phosphatase dans le plasma et dans le sérum. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1934, t. 31, p. 1070.
- 36 ROBERTS (W. M.). — Blood Phosphatases and the Van der Bergh reaction in the differentiation of several types of Jaundice. — *Brit. Medical Journal*, 1933, avril, t. 1, p. 734.
- 37 ROBERTS (W. M.). — Variations in the phosphatase activity of the blood in diseases. — *British Journal of exp. pathol.*, 1930, t. 11, p. 90.
- 38 ROBISON (R.). — The possible significance of hexose phosphorie esters in ossification. — *Biochem. Journ.*, 1923, t. 17, p. 286.
- 39 ROCHE (J.). — Sur les phosphatases du sang. — *Bull. Soc. chim. biol.*, juillet 1931, t. 13, n° 7, p. 841-856.
- 40 ROCHE (J.) et LATREILLE (M.). — L'action des phosphatases animales sur les mono et diesters de l'acide phosphorique. — *C. R. Soc. biol.*, 1935, t. 118, p. 900.
- 41 ROCHE (J.) et LATREILLE (M.). — Sur la phosphatase des globules rouges. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 119, p. 1144.

- 42 SCHUCHARDT (W.). — Sur l'hydrolyse de α et β glycérophosphates de la levure fraîche et des ferments de levures en solution.
— *Biochem. Z.*, 1935, t. 278, p. 164-172.
- 43 WOLBERG (H.). Sur la phosphatase urinaire (l'excrétion chez l'homme). — *Z. Physiol. chem.*, 1936, t. 238, p. 22-30.
-

En ma qualité de Censeur de
tour, j'ai lu la Thèse ayant pour
titre :

*Teneur en Phosphatases de quel-
ques substances d'origine ani-
male et végétale,*

par Mlle A. PLAUZOLLES.

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression.

Montpellier, le 30 novembre 1936.

Le Professeur,
ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 30 novembre 1936.

Le Doyen :
ASTRUC.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 2 décembre 1936.

Le Recteur,
TAILLIART.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION	9

• PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Etude des Phosphatases. Spécificité des phosphatases</i>	II
CHAPITRE II. — <i>Principe de la détermination de l'activité phosphatasique. — Méthodes de dosage</i>	15
Méthode de KAY	16
Méthode de ROBERTS	18
Méthode de BODANSKY	19
Détermination de l'activité phosphatasique par la méthode de CAYLA	27

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER. — <i>Teneur en phosphatases de quelques substances végétales : fruits, graines</i>	33
Fruits	34
Graines alimentaires	42

Boissons	45
Teneur en phosphatases de diverses substances végétales alimentaires	46
CHAPITRE II. — <i>Teneur en phosphatases de quelques organes animaux (organes frais et extraits commerciaux), de la bile, des sérums frais et des sérums thérapeutiques</i>	
A. — Foie frais et préparations industrielles	51
Bile et préparation industrielle	51
B. — Teneur en phosphatases de quelques extraits opo- thérapeutiques totaux	56
C. — Sérums frais de cheval, de bœuf, de porc et sérums thérapeutiques (hémostyl, gravidostyl)	59
Action sur les phosphatases de la chaleur et du vieillis- sement	59
Extraits d'organes et de sucs digestifs, classés suivant la teneur en phosphatase acide	62
Classification des divers extraits d'organes et de sucs digestifs, basée sur leur teneur en phosphatase alca- line	63
CHAPITRE III. — <i>Les phosphatases à travers l'organisme</i>	64
CONCLUSIONS	69
BIBLIOGRAPHIE	71

